

泡桐花提取物抑菌抗炎活性评价

徐立丽¹, 李丽妍^{2*} (1. 鞍山卫生学校, 辽宁鞍山 114000; 2. 黄河科技学院医学院, 河南郑州 450063)

摘要 [目的]探究泡桐花资源在饲料添加剂中的开发利用。[方法]制备兰考泡桐花不同提取物,采用牛津杯法测定其抑菌活性,采用梯度稀释法确定其最小抑菌浓度。利用二甲苯致小鼠耳肿胀模型和LPS诱导小鼠巨噬细胞RAW264.7炎症模型,评价泡桐花提取物抗炎活性。[结果]泡桐花水提取物对金黄色葡萄球菌、四联球菌、大肠杆菌和沙门氏菌的抑制作用最为显著,其醇提取物对白色念珠菌具有一定的抑制作用。泡桐花水提取物的抗炎作用最佳,在试验浓度范围内2 mg/mL泡桐花水提取物对细胞内炎症因子一氧化氮(NO)的清除能力最显著。[结论]泡桐花水提取物具有较显著的抑菌抗炎活性,可作为理想的饲料添加剂加以开发。

关键词 泡桐花提取物; 抗菌; 抗炎

中图分类号 S816.7 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)22-0170-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.22.042



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Evaluation on the Antibacterial and Anti-inflammatory Activity of *Paulownia elongata* Flower Extracts

XU Li-li¹, LI Li-yan^{2*} (1. Anshan Health School, Anshan, Liaoning 114000; 2. Medical School, Huanghe Science and Technology University, Zhengzhou, Henan 450063)

Abstract [Objective] To investigate the development and utilization of *Paulownia elongata* flower resources in feed additives. [Method] Different extracts from *P. elongata* S.Y. Hu flowers were prepared. The antibacterial activities of the extracts were determined by Oxford cup method, and the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts was determined by gradient dilution method. The anti-inflammatory activity of the extracts was evaluated by using xylene-induced ear swelling model and LPS induced macrophage RAW264.7 inflammatory model. [Result] The aqueous extract from *P. elongata* flowers had the most significant inhibitory effects on *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus tetragenus*, *Escherichia coli* and *Salmonella paratyphi*, while the alcohol extract inhibited on *Candida albicans*. The aqueous extract from *P. elongata* flowers had the best anti-inflammatory effects, 2 mg/mL aqueous extract from *P. elongata* flowers had the most significant scavenging ability on NO as intracellular inflammatory factor within the experimental concentration range. [Conclusion] The aqueous extract from *P. elongata* flowers had significant antibacterial and anti-inflammatory activities, so it could be used and developed as an ideal feed additive.

Key words Extract from *P. elongata* flowers; Anti-bacterial; Anti-inflammatory

随着人们生活水平的逐步提高和对健康生活的不断追求,食品安全备受关注。针对食用动物产品药物残留超标及耐药性等问题的日益加剧,农业农村部2019年7月发出的第194号公告称在我国停止生产、进口、经营和使用部分药物饲料添加剂,并于2020年7月1日起开始实施,这要求进一步提高动物营养与保健,调整饲料营养设计,选用新型绿色添加剂产品以替代原有抗生素,减少滥用抗生素造成的危害,维护动物源食品安全和公共卫生安全。

泡桐树是我国资源非常丰富的速生型落叶乔木,泡桐属共7种植物,分别为毛泡桐、兰考泡桐、楸叶泡桐、白花泡桐、台湾泡桐、川泡桐和南方泡桐^[1]。其中,兰考泡桐(*Paulownia elongata* S.Y. Hu)在我国河北、河南、山西、陕西、山东、湖北、安徽和江苏等地均有分布。泡桐一般花期在4—5月,泡桐花在春季开花时采收,资源丰富,晒干或鲜用^[2]。关于泡桐花的大量研究集中于毛泡桐,毛泡桐花中含有黄酮类、有机酸、生物碱、氨基酸、蛋白质、挥发油、多糖、酚类及鞣质类成分,其中糖苷类、黄酮类物质具有抗菌、止咳、消炎、平喘等作用^[3-8],但对兰考泡桐抗菌抗炎成分的研究报道较少^[9]。为综合开发与利用泡桐花资源,减少滥用抗生素造成的危害,笔者以兰考泡桐花为研究对象,通过评价其抗菌、抗炎活性,分析其在动物

饲料中作为添加剂应用的可能性和科学性。

1 材料与方法

1.1 试验材料 泡桐花采自校园内,泡桐种属经鉴定为兰考泡桐。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、四联球菌(*Micrococcus tetragenus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella paratyphi*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)等菌种均由黄河科技学院微生物实验室提供。昆明系小鼠购自郑州大学动物实验中心。小鼠巨噬细胞RAW264.7细胞系购自武汉Procell生命科技生物公司。

1.2 试剂 阿司匹林(aspirin)、营养琼脂、沙氏培养基均购自北京索莱宝生物科技有限公司,二甲苯购自天津科密欧化学试剂有限公司。DMEM培养基、青霉素、链霉素、EDTA-胰蛋白酶等均购自Gibco公司(美国);胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司。

1.3 仪器与设备 生物安全柜(AC2-4S1),购自新加坡ESCO科技有限公司;细胞培养箱(IN75),购自德国Mettler贸易有限公司;隔水式恒温培养箱(GHP-9050)购自上海一恒科学仪器有限公司;空气恒温摇床(型号KYC-100C,上海福玛实验设备有限公司);紫外可见分光光度计(722S),购自上海仪电分析仪器有限公司;多通道微孔板读板机(Envision),购自美国PerkinElmer公司。

1.4 方法

1.4.1 泡桐花提取物的制备。

1.4.1.1 水提取物的制备。取200 g泡桐花置于通风阴凉处自然干燥后,粉碎至100目待用。取上述粉末40 g,加入蒸馏

基金项目 河南省高校重点科研项目(21B350001);河南省科技厅科技攻关项目(172102310165)。

作者简介 徐立丽(1974—),女,辽宁鞍山人,高级讲师,从事病原微生物学与免疫研究。*通信作者,副教授,博士,从事天然产物研究。

收稿日期 2021-03-02

水,料液比为 1:15 (m/V),常温浸泡 2 h 后 80 °C 下浸提 1 h,过滤后留取滤液,滤渣以上述条件再浸提 1 次,过滤,合并滤液,减压浓缩至浸膏后冻干备用。

1.4.1.2 丙酮提取物的制备。取上述制备的泡桐花粉末 40 g,70%丙酮以料液比 1:8 (m/V)常温下浸提 3 h,抽滤取滤液后,滤渣以上述相同条件再浸提 3 次,合并 4 次滤液,上清液于 40 °C 下旋蒸浓缩至浸膏,冻干备用。

1.4.1.3 醇提取物的制备。取上述制备的泡桐花粉末 40 g,用 70%乙醇室温下浸泡泡桐花粉末 2 h,料液比为 1:14 (m/V),然后 70 °C 下继续浸提 1 h。抽滤分离上清液,滤渣以相同条件再浸提 1 h,合并滤液后于 40 °C 下减压浓缩至浸膏,冻干备用。

1.4.2 泡桐花提取物抑菌活性的测定。供试各菌种斜面活化后,挑取少量细菌菌落接种至 100 mL 营养肉汤培养基中,置于恒温振荡培养箱中培养 12 h (37 °C, 120 r/min);真菌接种至 100 mL PDA 液体培养基,并置于恒温振荡培养箱中培养 12 h (27 °C, 150 r/min),备用。

采用牛津杯法测定提取物的抑菌活性。用无菌吸管取 1 mL 充分混合的菌悬液于试管中,加入无菌生理盐水,调整菌悬液 OD_{600 nm} 至 0.6,以生理盐水作为空白对照。每板取 1 mL 菌悬液充分混合于相应固体培养基平板中。

称取适量提取物样品,分别用水配制浓度为 100 mg/mL 泡桐花水提物溶液,以 0.5% DMSO 配制浓度 100 mg/mL 的泡桐花醇提物和酮提物样品溶液。牛津杯中分别加入 200 μL 样品溶液,每个浓度样品重复 3 次,同时分别设置空白对照。37 °C 恒温培养箱中培养 24 h,测量抑菌圈直径,结果取平均值。

1.4.3 泡桐花各提取物的 MIC 值测定。配制浓度分别为 100.000、50.000、25.000、12.500、6.250、3.125 mg/mL 的提取物系列溶液,其中水提物用水溶解配制,醇提物和酮提物用 0.5% 的 DMSO 溶剂配制。用相应液体培养基调整上述制备的菌悬液 OD_{600 nm} 为 0.2,于 96 孔板中加入 90 μL/孔的菌悬液,再分别加入配制好的各浓度提取液 10 μL/孔,混合均匀后放入培养箱中振荡培养 12 h 后,测定 OD_{600 nm}。每孔设 3 个重复,3 次平行试验。以不含药品的营养肉汤或液体 PDA 为空白对照,测定最小抑菌浓度。

1.4.4 泡桐花提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀度的影响。取雄性昆明系小鼠 30 只,随机分为空白对照组(生理盐水组)、阿司匹林组、泡桐花水提物组、醇提物组和酮提物组,每组 6 只。各组小鼠连续灌胃给药 7 d,灌胃量为 1 mg/g,阿司匹林组剂量为 0.02 mg/g,末次给药前禁食不禁水 12 h,末次给药 30 min 后,在每只小鼠耳廓两面均匀涂抹 30 μL 二甲苯^[10]。以左耳作为对照,1 h 后脱颈处死。剪下双侧耳廓,用 6 mm 打孔器在同一位置冲下两耳耳片,用电子天平称重,以左右两耳片重量之差表示耳部炎症的肿胀度,并按照以下公式计算肿胀抑制率(%):肿胀抑制率=(空白对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度)/空白组平均肿胀度×100%。

1.4.5 泡桐花提取物对 LPS 诱导的小鼠巨噬细胞 Raw264.7

细胞系炎症反应的影响。

1.4.5.1 泡桐花提取物细胞毒性评价。根据“1.4.4”试验结果,选取泡桐花水提物和醇提物进行细胞水平炎症反应试验。CCK-8 法用于评价 2 种提取物对小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 的细胞毒性作用。细胞用含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基在 37 °C 培养箱中(5%CO₂,空气湿度 95%)培养至细胞融合度至 80%,消化铺板于 96 孔板,每孔 100 μL,接种密度为 2×10⁴ 个细胞/孔。培养过夜后,分别加入泡桐花水提物和醇提物,系列浓度为 1、2、4 和 8 mg/mL,以不加泡桐花提取物的组作为空白对照组。培养 24 h 后加入 10% CCK-8 工作液,继续培养 1 h 后,测定 OD_{450 nm}。按照以下公式计算细胞存活率(%):细胞存活率=(OD_{空白对照组}-OD_{药物组})/OD_{空白对照组}×100%。

1.4.5.2 泡桐花提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞系一氧化氮(NO)产生量的影响。将细胞融合度 80%的细胞板以 2×10⁵ 个细胞/mL 的密度铺 96 孔板,每孔 100 μL。过夜后分为 LPS 组(终浓度为 0.5 μg/mL)、LPS+阿司匹林组(LPS、阿司匹林终浓度为 20.0 μg/mL)、LPS(终浓度为 0.5 μg/mL)+泡桐花水提物组(终浓度分别为 0.5、1.0、2.0 mg/mL)。不加任何药物的细胞作为对照组。细胞培养 24 h 后取培养液,4 °C 下 1 000 r/min 离心 10 min,取上清,用于 NO 含量测定。

Griess 法测定 NO 含量(Sittisart 等^[11]),以浓度 3.125~100.000 μmol/L 的 NaNO₂ 绘制标准曲线,计算样品培养液中 NO 含量。以 NO₂⁻ 的质量分数为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线相关方程为 $y=0.0394x+0.0694$ ($R^2=0.9991$)。

2 结果与分析

2.1 兰考泡桐花不同提取物的得率 兰考泡桐花水提取物得率为 11.20%,70%乙醇提取物得率为 10.59%,70%丙酮提取物得率为 8.95%。

2.2 泡桐花不同提取物抑菌试验结果 泡桐花不同提取物的抑菌试验结果见表 1。由表 1 可知,兰考泡桐花不同提取物对金黄色葡萄球菌、四联球菌、大肠杆菌和沙门氏菌均具有一定的抑制作用,泡桐花醇提取物对真菌白色念珠菌有一定的抑制作用。提取物在相同浓度下,对革兰氏阳性菌四联球菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果最佳,对革兰氏阴性菌大肠杆菌和沙门氏菌的抑制作用次之。由此可见,泡桐花不同提取物对革兰氏阳性菌的抑菌效果最为显著。

2.3 MIC 测定结果 泡桐花不同提取物的最小抑菌浓度结果见表 2。由表 2 可知,泡桐花水提物对细菌的抑制作用最为显著,其对四联球菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和沙门氏菌的 MIC 值分别为 6.25、6.25、25.00、25.00 mg/mL。泡桐花醇提物对真菌白色念珠菌的 MIC 值为 50.00 mg/mL。总体而言,泡桐花不同提取物对以四联球菌和金黄色葡萄球菌为代表的革兰氏阳性菌的 MIC 值较小,即抑制效果最为显著,对革兰氏阴性菌的 MIC 值次之,对真菌的 MIC 值最大,即最不敏感,这种抑菌效果的差异性可能与革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌细胞结构组成不同相关。此外,水提物的抑菌

效果比其醇提物和酮提物略好,可能与其水提物中的糖苷及黄酮苷类成分较多有关。

通过对以上试验结果分析可知,兰考泡桐花水提物的抑

菌活性较为显著,且泡桐花水提物在工艺上易于提取,泡桐花提取物可作为一种较为理想的替代抗生素类成分的植物饲料添加剂。

表1 泡桐花3种提取物的抑菌效果评价

Table 1 The evaluation on the antibacterial effect of three kinds of extracts from *P.elongate* flowers

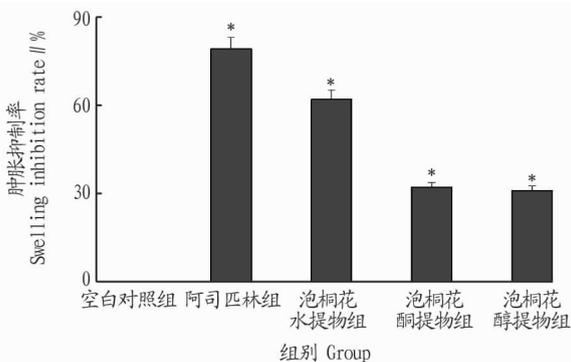
药品 Types	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter//mm				
	金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	大肠杆菌 <i>E.coli</i>	四联球菌 <i>M.tetragenus</i>	沙门氏菌 <i>S.paratyphi</i>	白色念珠菌 <i>C.albicans</i>
泡桐花水提物 Aqueous extract from <i>P.elongate</i> flowers	13.2±0.2	8.2±0.1	17.2±0.3	8.5±0.5	—
泡桐花酮提物 Ketone extract from <i>P.elongate</i> flowers	11.0±0.2	7.0±0.5	15.0±0.5	7.2±0.2	—
泡桐花醇提物 Alcohol extract from <i>P.elongate</i> flowers	11.6±0.3	7.8±0.2	15.5±0.4	7.9±0.7	8.5±0.3

表2 泡桐花不同提取物的MIC值测定结果

Table 2 MIC determination results of different extracts from *P.elongate* flowers

药品 Types	MIC值测定结果 mg/mL				
	金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	大肠杆菌 <i>E.coli</i>	四联球菌 <i>M.tetragenus</i>	沙门氏菌 <i>S.paratyphi</i>	白色念珠菌 <i>C.albicans</i>
泡桐花水提物 Aqueous extract from <i>P.elongate</i> flowers	6.25	25.00	6.25	25.00	—
泡桐花酮提物 Ketone extract from <i>P.elongate</i> flowers	12.50	25.00	12.50	25.00	—
泡桐花醇提物 Alcohol extract from <i>P.elongate</i> flowers	12.50	25.00	12.50	25.00	50.00

2.4 泡桐花提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀度的影响 泡桐花不同提取物对小鼠耳肿胀的抑制程度见图1。由图1可知,20 mg/mL的泡桐花水提物、醇提物和酮提物下肿胀抑制率分别为62.31%、32.30%和31.14%,而4 mg/mL阿司匹林组肿胀抑制率为79.50%。泡桐花水提物的肿胀抑制率明显高于其醇提物和酮提物,与空白对照组相比各试验组均存在显著差异($P<0.05$)。



注: *表示与空白对照组差异显著($P<0.05$)

Note: * indicated significant differences with the blank control group ($P<0.05$)

图1 泡桐花各提取物对小鼠耳肿胀抑制率的影响

Fig.1 The effects of different extracts from *P.elongate* flowers on the swelling inhibition rate of mouse ear

2.5 泡桐花提取物对LPS诱导的小鼠巨噬细胞Raw264.7细胞系炎症反应的影响

2.5.1 泡桐花提取物的细胞毒性。泡桐花提取物对巨噬细胞RAW264.7的细胞毒性结果见图2。由图2可知,0.5和1.0 mg/mL的泡桐花提取物对细胞存活率几乎没有影响,

2.0 mg/mL的泡桐水提物对细胞存活率也几乎没有影响,存活率为95.61%,而该浓度下泡桐花醇提物的细胞存活率降至91.50%。随着泡桐花水提物和醇提物浓度的增加,细胞存活率呈现逐渐降低的趋势,4.0 mg/mL的泡桐花水提物组细胞存活率降至80.20%,而泡桐花醇提物组细胞存活率降至75.60%。相同浓度下,泡桐花水提物对细胞毒性的影响更低。鉴于此,选取2.0 mg/mL作为泡桐花水提物的最大试验浓度,考察其对细胞炎症模型的抗炎作用。

2.5.2 泡桐花提取物对LPS诱导的巨噬细胞RAW264.7细胞系NO产生量的影响。一氧化氮(NO)作为细胞内的介质,在LPS刺激的炎症部位释放,这可能导致严重的炎症和内毒素血症^[12-13]。因此,在炎症刺激下抑制NO的产生是减轻炎症反应的有效策略。据报道,植物黄酮对LPS刺激的RAW264.7巨噬细胞产生NO有抑制作用^[14-16]。因此,NO作为一个炎症介质指标,被用于考察泡桐花水提物的抗炎活性。由图3可知,0.5 μg/mL的LPS诱导巨噬细胞RAW264.7可以显著提高其NO水平,说明炎症模型制备成功,而泡桐花水提物处理后NO产生量显著下降,且随着泡桐花水提物浓度的升高,NO产生量呈剂量关系。2.0 mg/mL泡桐水提物可以降低NO产生量,接近20 μg/mL阿司匹林的作用结果。

3 讨论与结论

为开发新型食用动物饲料添加剂,笔者选取资源丰富的兰考泡桐花进行研究。结果表明,泡桐花不同提取物对细菌的抑制能力以其水提物最为显著,且其对以四联球菌和金黄色葡萄球菌为代表的革兰氏阳性菌的抑制效果好于以大肠杆菌和沙门氏菌为代表的革兰氏阴性菌。同时,泡桐花各提取物对白色念珠菌类真菌的抑菌试验中发现泡桐花的醇提

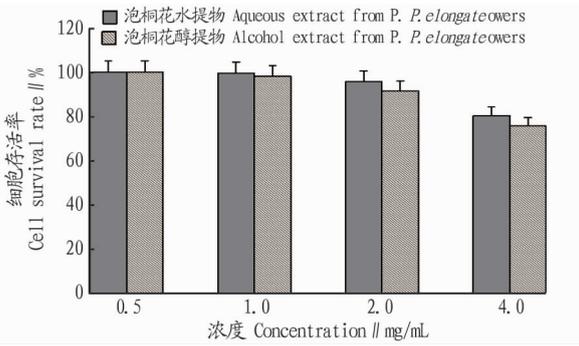


图2 泡桐花提取物对 RAW264.7 细胞存活率的影响

Fig.2 The effects of the extracts from *P.elongate* flowers on the survival rate of RAW264.7 cells

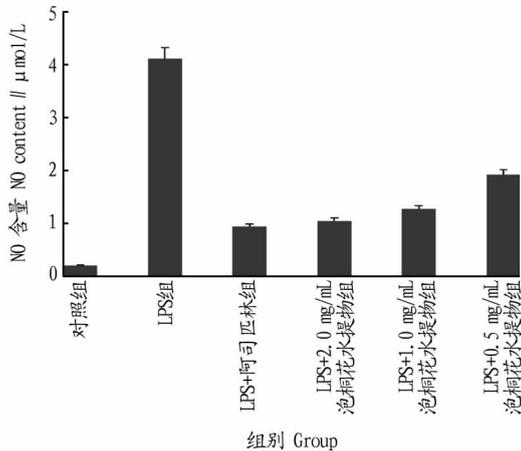


图3 泡桐花提取物对 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 细胞系 NO 产生量的影响

Fig.3 The effects of the extracts from *P.elongate* flowers on the NO production of macrophages RAW264.7 cell line induced by LPS

物在大剂量下可抑制白色念珠菌的生长。这些抑菌效果的不同可能与细菌和真菌细胞壁结构的不同相关,相对于泡桐花醇提物和酮提物,其水提物中含有大量的可溶性糖苷类、黄酮苷类、有机酸、生物碱类化合物,而大量研究表明糖苷类化合物具有抗菌活性^[17-18]。对中草药饲料添加剂的开发研究也发现,具有良好抑菌功效的活性物质主要有多糖、酚类和萜类等物质,通过改变细胞膜的通透性,抑制和调控细菌遗传物质的表达而起到抑菌作用^[19]。这也可以印证泡桐花水提物抑菌效果好于有机溶剂提取物的现象。

在动物模型抗炎试验中也发现,泡桐花水提物的效果好于有机溶剂提取物,可能也与其含有较多的可溶性多糖和黄酮苷类成分有关。因此,后续细胞验证模型仅考察泡桐花水提物的抗炎活性。NO 是一种自由基气体,巨噬细胞的防御功能即是通过 NO 介导的,因此 NO 可作为细胞因子在炎症反应中扮演重要的角色^[20]。NO 在体内或水溶液中极易氧化成 NO₂⁻,因此可以利用其与 Griess 试剂反应生成的产物浓度与 NO 浓度具有线性关系,在 540 nm 处检测 NO 的表达

量,而促使 NO 表达量下调的药物则意味着其具有抗炎活性。动物模型和细胞模型试验结果均表明泡桐花水提物具有良好的抗炎活性,且 2.0 mg/mL 的泡桐花水提物与 20 μg/mL 的阳性药物阿司匹林的抗炎活性接近,均可以显著下调 LPS 诱导的 NO 大量表达。

此外,泡桐花水提物显著的抑菌抗炎活性对于其在饲料添加途径的可操作性也较为突出,即泡桐花作为添加剂的直接添加或者制备水提物的添加方式均比有机溶剂提取物的添加方式更加方便、安全且环保。这对于其作为动物饲料绿色添加剂的开发是极为有利的。该研究也将深入挖掘其抗菌抗炎的单一组分,有待进一步的机理研究。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,2008:281.
- [2] 李寅超,赵宣红,傅蔓华,等.泡桐果总黄酮抗支气管哮喘反应性炎症的实验研究[J].中医研究,2006,19(8):13-15.
- [3] 杜欣,师彦平,李志刚,等.毛泡桐花中黄酮类成分的分离与结构确定[J].中草药,2004,35(3):245-247.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1975:466-467.
- [5] 魏希颖,何悦,蒋立锋,等.泡桐花体外抑菌作用及黄酮含量的测定[J].天然产物研究与开发,2006,18(3):401-404.
- [6] 王福成.毛泡桐花生物活性组分的制备与化学表征研究[D].兰州:兰州大学,2007.
- [7] 郑敏燕,魏永生,古元梓.固相微萃取-气相色谱-质谱法分析毛泡桐花挥发性成分[J].质谱学报,2009,30(2):88-93.
- [8] 屈枫锦,张晓珍,姚姚,等.泡桐属药学研究新进展[J].安徽农业科学,2011,39(32):19809-19810.
- [9] 王清,刘敬,陈晓兰,等.基于 LC/QTOF-MS/MS 法鉴定兰考泡桐花化学成分[J].中医药学报,2015,43(5):70-76.
- [10] 丛媛媛,帕丽达·阿不力孜,米仁沙·牙甫甫,等.阿魏菇多糖的急性毒性及抗炎实验研究[J].亚太传统医药,2013,9(2):7-8.
- [11] SITTISART P, CHITSOMBOON B, KAMINSKI N E. *Pseuderanthemum palatiferum* leaf extract inhibits the proinflammatory cytokines, TNF- α and IL-6 expression in LPS-activated macrophages [J]. Food Chem Toxicol, 2016, 97:11-22.
- [12] KORHONEN R, LAHTI A, KANKAANRANTA H, et al. Nitric oxide production and signaling in inflammation [J]. Curr Drug Targets Inflamm Allergy, 2005, 4(4):471-479.
- [13] MORO C, PALACIOS I, LOZANO M, et al. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages [J]. Food Chem, 2012, 130(2):350-355.
- [14] ANDO C, TAKAHASHI N, HIRAI S, et al. Luteolin, a food-derived flavonoid, suppresses adipocyte-dependent activation of macrophages by inhibiting JNK activation [J]. FEBS Lett, 2009, 583(22):3649-3654.
- [15] LI Y J, GUO Y, YANG Q, et al. Flavonoids casticin and chrysoferol D from *Artemisia annua* L. inhibit inflammation *in vitro* and *in vivo* [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 286(3):151-158.
- [16] TRAN P L, TRAN P T, TRAN H N K, et al. A prenylated flavonoid, 10-oxomomigrol F, exhibits anti-inflammatory effects by activating the Nrf2/heme oxygenase-1 pathway in macrophage cells [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55:165-173.
- [17] 李世杰,李勇,曾海英.茯苓多糖的酶解工艺及抑菌性研究[J].中国酿造,2018,37(5):177-180.
- [18] 张彩云,刘松雁,魏昆鹏.中草药活性多糖在畜牧业中的应用[J].江西饲料,2010(3):16-17,25.
- [19] 夏诗琪,王培玲,张丽,等.中草药饲料添加剂的抑菌研究及应用现状[J].江西农业大学学报,2020,42(6):1231-1236.
- [20] 自伯海,付凤先,陈守平,等.一氧化氮在炎症反应中的作用[J].齐鲁医学杂志,2001,16(2):170-172.